

**DES ASPECTS SUR CONTAMINATION
MICOTOXICOLOGIQUE DE L'ORGE – MATIÈRE
PRÉMIÈRE DANS L'INDUSTRIE DE LA BIÈRE**

**ASPECTS OF MYCOTOXICOLOGIC CONTAMINATION
OF BARLEY – RAW MATERIAL IN BREWING**

Adriana DABIJA¹, Iuliana SION^{1*}, Mihaela TITA², Ovidiu TITA²

¹*Université de Bacău, Faculté d'Ingénierie, Marasesti Rue, 157,
600115 Bacău, Roumanie;*

²*Université « Lucian Blaga » Sibiu, Ion Ratiu Rue nr.7-9,
Sibiu, Roumanie*

*Corresponding author: iuli_sion@yahoo.com

Received: 14/09/2007

Accepted after revision: 15/10/2007

Abstract: The paper presents original researches on the microbiological contamination of barley used as raw material in brewing industry.

The subject subscribes to the general effort done for production improvement and trying to solve the main problems faced by the Romanian producers in order to meet EU criteria and standards.

Keywords: *barley, microbiological analysis, mycotoxines, Elisa method*

INTRODUCTION

L'industrie de la bière a connu les années passées, en comparant autres secteurs de l'industrie alimentaire, un processus signifiant de restructuration, modernisation technologique est augmentation économique. Dans le présent, en Roumanie sont produit plus de 100 marques de bière et la production de bière était 2,8 millions d'hectolitres dans année 2005, pour 2006 en estimant plus de 3,0 millions hL, d'après les informations de Patronat de la Bière en Roumanie. La quantité de céréales pour la fabrication de la bière, qui est prélevée de producteurs indigènes est de 77 000 tonnes d'orge, 13 500 tonnes de maïs, d'après la même source d'information.

C'est pourquoi qu'il est nécessaire d'accorder une importance maximale à la sûreté micro biologique et chimique du produit fini pour la protection des consommateurs. Les mycotoxines peuvent arriver dans la bière parmi les céréales- matières premières. Elles sont des métabolites produits par les mycètes développées sur un substrat, capables de produire des maladies aux ceux qui consomment les produits respectifs : les hommes, les animaux, les plantes, etc. [1 – 2].

Le nombre des fungi connus pour leur capacité de produire mycotoxines est impressionnant et il grandit jour par jour. En présent, on avait connu beaucoup des métabolites, une grande partie avaient une action cancérogène certes. Par exemple, aflatoxines sont considérées très hépato-toxique, hépato-cancérogènes et mutagènes. L'ingestion de 1 – 5 ppm d'aflatoxines se traduit par lésions hépatiques, par une prolifération cellulaire et une dégénérescence grasse du foie. Toutes les vertébraux, de l'homme aux poissons, sont sensibles aux aflatoxines, différenciellement. Au quelques espèces il est prédominant l'effet hépato-toxique, aux autres celui hépato-cancérogène. Les zéarelenones représentent des contaminants fréquents des produits céréaliers. En quantités réduites ont un effet stimulateur pour la masse, c'est l'un des les objectifs poursuivis. Dans des doses fortes ont une action estrogène, en produisant avortions et stérilité. L'ochratoxine A des effets toxiques sur le rein, a un effet immunosuppresseur, carcinogénétique et tératogénique. Elle produit des lésions sur le niveau de rein et a été proposée l'agent responsable pour les néphropathies endémiques. Les dernières années ont été considérées très favorables pour le développement des mycotoxines en Europe entière et aussi en Roumanie. Au niveau européen se constate un niveau de contamination avec mycotoxines de 20%, ainsi dans les pays développés. Dans le contexte de l'intégration européenne notre pays doit adopter la législation obligatoire, une première étape a été en novembre 2005, par l'implémentation des nouvelles limites pour les mycotoxines dans céréales, fourrages et aliments. Ils sont plusieurs facteurs qui peuvent influencer le développement des moisissures et ont un impact à la composition des grains d'orge, et ceux sont :

- des facteurs externes : la température, l'humidité, la composition de l'air ;
- des facteurs internes : la structure de substrat, le contenu des substances nutritives et pour développement ;
- des facteurs biologiques: le type et le grade de contamination, d'actions antagoniste, des actions synergétiques.

Les moisissures rencontrées sur les grains d'orge se trouvent aussi dans l'air et dans le sol. Dépendre de la provenance, la microflore de l'orge se divise en:

- microflore de champ;
- microflore intermédiaire;

- microflore de l'entreposage.

Au parcours de l'entreposage, les moisissures de l'orge se développent quand l'humidité relative de l'air est 80 – 85% est a une température élevée, plus de 26%. Le produit attaque devient lui-même, une source de contamination et la toxine s'accumule [6].

Il a été étudié le développement des moisissures a l'entreposage, a fonction de l'humidité de l'air, pour une période d'entreposage de plus 18 mois. Ainsi:

- à une valeur de 10 – 13,2% pour l'humidité ne se modifie pas le nombre des spores de moisissure;
- à une valeur de 13,8 – 14,2% pour l'humidité se produit un développement du nombre des spores, surtout a l'espèce *Aspergillus glaucus*;
- à une valeur de 15 – 19,9% se développent forte les moisissures du genre *Aspergillus*;
- à la valeurs plus de 20% se réduisent les moisissures du genre *Aspergillus* et arrivent moisissures *Penicillium* qui couverte le grain [2].

L'analyse microbiologique de l'orge met en évidence sa contamination microbiologique et donne des indices sur ses conditions de l'entreposage. Les spécialistes de l'industrie de bière proposent une classification de l'orge (les céréales) après la qualité microbiologique [3 – 4].

Tableau 1. La classification de l'orge après sa qualité microbiologique

Classe de qualité	Spores de moisissure/g céréales	Fréquence de l'apparition du moisissure <i>Penicillium</i> et <i>Aspergillus</i>	Observations
I a) super b) standard	max. 104 max. 103 max. 104	max. 10% max. 5%	Prédomine <i>Alternaria spp.</i>
II	104 – 105	11 – 30%	Prédomine <i>Aspergillus</i> . La contamination n'est pas visible. Elle est détectable avec le microscope stéréo.
III	105 – 106	31 – 50%	Prédomine <i>Penicillium</i> . Au microscope stéréo sont visibles des colonies de moisissures, mycélium.
IV	> 106	51 – 100%	Prédomine <i>Penicillium</i> . L'attaque de la moisissure est visible

Les chercheurs ont identifié au présent 300 – 400 mycotoxines, mais quelques-unes par elles présentent danger pour la santé des populations. A l'entreposage défectueux du matériel première, dans les silos, peut arriver la contamination avec différentes mycotoxines : aflatoxines (B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂) d'*Aspergillus flavus*, ochratoxines

d'*Aspergillus ochraceus* et *Penicillium viridicatum*, deoxynivalenol (DON) ou vomitoxine de *Fusarium graminearum*, zearelenone produit par *Fusarium graminearum*, fumonisin (B₁, B₂, B₃) produit par *Fusarium moniliforme*. La législation de l'Union Européenne donne les limites maximales pour les mycotoxines des céréales qui ont les valeurs suivantes : aflatoxines totales µg/kg (ppm), ochratoxine A - 5 µg/kg (ppm). Les mycotoxines sont résistantes à l'action des agents chimiques et aux traitements thermiques qui détruisent les spores de moisissure. Ainsi, la contamination avec des moisissures qui produisent des mycotoxines est très dangereuse parmi ses effets cancérogènes et toxiques, surtout elles résistent au processus technologique de l'industrie de la bière. Majerus a analysé plusieurs sortes de bière, ou a trouvé des quantités infimes de mycotoxines, par exemple 1 – 2 µg/L. Payen et al. ont obtenu les résultats suivants à la fin des analyses de 86 sortes de bière : de 37, 4 ont été contaminées avec 5 – 110 µg/L ochratoxine A, de 49, 8 ont été contaminées avec l'epoxitrichotecine ; de 49, un seul échantillon a un contenu de 5 – 110 µg/L zearelenone [5 – 8]. Les mycotoxines produisent des maladies par intoxication aiguë ou chronique. Aussi, ces mycotoxines sont responsables de l'extra-spumant de la bière, au moment d'ouverture de la bouteille [9].

Le papier présente les propres recherches sur la contamination microbiologique de l'orge - matière première dans l'industrie de la bière.

MATERIAUX ET METHODES

Les échantillons d'orge utilisés dans l'analyse ont été sélectionnés d'une quantité de 1500 tonnes d'orge, pour fabrication de malte dans SC BERMAS Suceava. Pour la détermination des mycotoxines on utilise la méthode Elisa. Le principe de la méthode pour les mycotoxines : le test est un test immunoenzymatique direct et compétitif. Les mycotoxines s'extraient des échantillons de millet avec du méthanol 70% (v/v). L'extrait d'échantillon et la mycotoxine conjuguée avec l'enzyme se mélangent et s'ajoutent dans les puits avec des anticorps. Les mycotoxines des standards et des échantillons sont en compétition enzymatique avec la mycotoxine conjuguée avec l'enzyme, pour les sites des anticorps. Après une période d'incubation d'une heure, les réactifs (marqués avec l'enzyme) non conjugués sont libérés dans l'étape de lavage. Après lavage, on introduit le substrat enzymatique (substrat chromogène) et on obtient la couleur bleue (parmi la transformation du chromogène de l'enzyme). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la concentration de mycotoxine d'échantillon ou du standard. Après, on introduit une solution pour stoppage, qui provoque le virage de la couleur bleue à jaune. L'intensité de la couleur se mesure par l'intermédiaire d'un dispositif avec un filtre de 450 nm. Les densités optiques d'échantillons se comparent avec celles du standard.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Ont été analysées 25 échantillons d'orge destinée pour l'industrie de la bière. Les résultats des déterminations effectuées sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. La contamination microbiologique de l'orge

No.	Type de mycotoxine			
	Zearelenone (ppb)	Aflatoxine (ppb)	Ochratoxine (ppb)	DON (ppm)
1	5,2	-	-	-
2	3,7	-	-	-
3	27,9	-	-	-
4	8,9	-	-	-
5	179,9	3,1	-	0,9
6	-	-	4,1	-
7	-	-	6,4	-
8	-	-	12,6	-
9	-	-	9,2	-
10	-	-	12,7	-
11	-	-	14,0	-
12	-	0,5	4,8	-
13	-	0,6	7,6	0,5
14	-	0,5	5,0	0,6
15	-	0,8	6,7	0,6
16	-	0,9	1,7	0,5
17	-	1,0	7,5	-
18	37,7	0,8	-	-
19	79,3	3,5	-	-
20	187,5	0,3	-	-
21	370,5	1,1	-	-
22	96,9	1,4	-	-
23	70,8	0,7	-	-
24	24,1	0,3	-	-
25	85,8	0,3	-	-

Des 25 échantillons d'orge de printemps et d'orge d'hiver sélectionnées pour l'analyse : en 13 ont identifié zearelenone entre limites 3,70 – 370,5 ppb, en 15 échantillons – aflatoxine entre limites 0,3 – 3,5 ppb, en 12 échantillons – ochratoxine, entre limites 1,7 – 14 ppb et dans 5 échantillons ont trouvait deoxynivalenol (DON), entre limites 0,5 – 0,9 ppm.

CONCLUSIONS

L'échantillons d'orge analysées ne présentaient pas valeurs dépassées pour les types des mycotoxines examinées et aussi ne se sont pas identifiées en même temps toutes les sortes des mycotoxines. Par la procession industrielle d'orge contaminée existe le risque que cette mycotoxines arrivent dans le produit fini - la bière.

Le thème présenté s'inscrit dans l'effort général de notre pays pour l'automatisation de production et circulation de chaque aliment, dans le contexte de solutionner les principaux problèmes déterminés de préparation des producteurs pour l'adhésion à l'Union Européenne.

REFERENCES

1. Bamforth, C.W.: *Beer. Health and Nutrition*, Blackwell Science Ltd, Oxford, **2004**
2. Banu, C., et al.: *Principii de drept alimentar (Legal Food Principles – in Romanian)*, Editura AGIR, Bucuresti, **2003**
3. Baxter, E.D.: *Beer. Quality, Safety and Nutritional Aspects*, Research International, RSC Publishing, Cambridge, **2001**
4. Briggs, E.D.: *Brewing Science*, C.H.I.P.S., Weimar, Texas, **2004**
5. Hură, C., *Contaminanți chimici în produsele alimentare (Chemical Contaminants in Food Products – in Romanian)*, Editura CERMI, Iași, **2001**
6. Popa, G., et al., *Toxicologia produselor alimentare (Toxicology of Food Products – in Romanian)*, Editura Academiei, Bucuresti, **1986**
7. Priest, F.G., Campbell, I.: *Brewing Microbiology*, C.H.I.P.S., Weimar, Texas, **2002**
8. Rotaru, G.Moraru, C.: *Analiza riscurilor. Punctele critice de control (Hazard Analysis. Critical Control Points – in Romanian)*, Editura Academica, Galati, **1997**
9. Sperber, W.H.: The modern HACCP system, *Food Technology*, **1991**, 6,116